BIOHIT HealthCare

Innovating for Health

BIOHIT ACTIVE B12

(HOLOTRANSCOBALAMIN)

MODE D'EMPLOI



602 290





For *in vitro* diagnostic use

Store at 2-8 °C Upon Receipt

Biohit Oyj Laippatie 1, FI-00880 Helsinki, Finland

Tel. +358 9 773 861, info@biohit.fi, www.biohithealthcare.com

MODE D'EMPLOI **Français**

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) **Nº de cat. 602290**

1. INDICATIONS

Le test BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) est un test immuno-enzymatique (EIA) destiné à la détermination quantitative de l'holotranscobalamine (HoloTC) dans le sérum humain. L'HoloTC (vitamine B12 liée à la transcobalamine) est utilisée pour faciliter le diagnostic et le traitement de la carence en vitamine B12.

2. INTRODUCTION

Trois protéines de liaison sont impliquées dans le transport de la vitamine B12 dans l'organisme : le facteur intrinsèque (FI), la transcobalamine (TC) et l'haptocorrine (HC). Ces protéines garantissent la fixation efficace des très petites quantités de vitamine B12 d'origine alimentaire. Lorsque la TC et l'HC lient la vitamine B12 les complexes qui en résultent sont connus sous les noms d'holotranscobalamine (HoloTC) et d'holohaptocorrine (HoloHC) afin de les distinguer des protéines ne transportant aucune vitamine.
L'HoloHC représente 70 à 90 % de la vitamine B12 présente dans le sang mais elle est biologiquement inerte. L'HoloTC n'en représente que 10 à 30 % mais elle est la seule forme de vitamine B12 qui puisse être absorbée par les cellules de l'organisme. Seule la protéine TC transporte la vitamine B12 de son site d'absorption dans l'iléon vers les tissus et les cellules. La vitamine est alors internalisée sous forme de complexe HoloTC (vitamine B12 liée à la transcobalamine) via une absorption spécifique médiée par récepteur. Ce processus fournit la vitamine B12 comme co-enzyme pour les fonctions cellulaires essentielles telles que la synthèse de l'ADN. Étant donné que l'HoloTC a une demi-vie de circulation plus courte que l'HoloHC, une carence en vitamine B12 se traduira très probablement d'abord par une diminution du taux sérique de l'HoloTC[1].

La mesure de la vitamine B12 sérique totale comporte certaines limites ; en particulier, la majeure partie de la cobalamine mesurée est liée à l'HC biologiquement inerte. Plusieurs études publiées concluent que l'HoloTC serait un meilleur indicateur du statut de la vitamine B12 que la B12 sérique totale[2,3]. Comme l'on pouvait s'y attendre, les taux d'HoloTC sont faibles chez les patients présentant des signes biochimiques de carence en vitamine B12[4].

Des valeurs peu élevées ont été rapportées chez les végétariens[5], les végétaliens[6] et dans les populations où les apports en vitamine B12 sont faibles[7]. De faibles taux d'HoloTC (mais pas de B12 sérique totale) ont en particulier été observés chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer comparés aux taux du groupe témoin sain[8]. Les taux d'HoloTC reflètent le statut de la vitamine B12, indépendamment de l'absorption récente de la vitamine[9].

3. PRINCIPE DU DOSAGE

Les puits de microtitrage sont recouverts d'un anticorps monoclonal très spécifique pour la B12 active (Holotranscobalamin). Au cours de la première incubation, l'holotranscobalamine du sérum se lie spécifiquement à la surface recouverte d'anticorps. Durant la deuxième incubation, le conjugué se lie à l'holotranscobalamine capturée. On lave ensuite les puits pour éliminer les composants non liés. L'holotranscobalamine liée est détectée par incubation avec le substrat. L'ajout de solution d'arrêt arrête la réaction, ce qui donne un produit fini coloré. La concentration de l'holotranscobalamine en pmol/L est directement liée à la couleur générée et peut être estimée par interpolation à partir d'une courbe dose-réponse établie sur la base d'étalons.

4. MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

1. **N'utiliser que pour le diagnostic *in vitro* . Précautions d'emploi**
2. Il est impératif de se conformer strictement à ce mode d'emploi, en particulier en ce qui concerne la manipulation et les conditions de conservation.
3. Ne pas pipeter à la bouche.
4. Ne pas fumer, manger, boire ou appliquer de cosmétiques dans les zones où les trousses et les échantillons sont manipulés.
5. Il convient de protéger convenablement toute affection, coupure ou éraflure cutanée et autres lésions cutanées.
6. Les étalons, les témoins, le conjugué, le prétraitement et le tampon de lavage concentré contiennent de l'azide de sodium. Celui-ci peut réagir avec les tuyaux en plomb ou en cuivre et former des azides de métal très explosifs. Lors de l'élimination, vider avec une grande quantité d'eau pour éviter toute accumulation d'azide.
7. La solution d'arrêt contient de l'hydroxyde de sodium. Éviter tout contact avec la peau, les yeux et les muqueuses. Éponger tout déversement avec de grandes quantités d'eau. En cas de contact avec la peau ou les yeux, asperger abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste immédiatement.
8. Les fiches de sécurité associées à tous les composants dangereux contenus dans cette trousse sont disponibles sur demande auprès de Biohit Oyj.
9. Ce produit nécessite la manipulation d'échantillons et de matériaux d'origine humaine et animale. Il est recommandé que tous les matériaux d'origine humaine et animale soient considérés potentiellement infectieux et qu'ils soient manipulés conformément à la norme OSHA sur le niveau 2 de biosécurité des agents pathogènes à diffusion hématogène ou que d'autres pratiques de biosécurité appropriées soient utilisées pour les matériaux qui contiennent ou contiendraient des agents infectieux.

CORROSIF	Solution d'arrêt	R34 S26 S36/37/39 S45	Provoque des brûlures. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un dispositif de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette).
NOCIF	Substrat	R20/21/22 R38 R43 S23 S24 S28 S29/35 S36/37/39 S46	Nocif par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Irritant pour la peau. Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. Ne pas respirer les fumées. Éviter tout contact avec la peau. Après contact avec la peau, laver immédiatement avec beaucoup d'eau. Ne pas jeter les résidus à l'égout ; ne se débarrasser de ce produit et de son récipient qu'en prenant toutes les précautions d'usage. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un dispositif de protection des yeux/du visage. En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.
	Tampon de lavage concentré (x8)	R22 R32 R52/53 S29/35 S36/37/39 S46	Nocif en cas d'ingestion. Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique. Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique. Ne pas jeter les résidus à l'égout ; ne se débarrasser de ce produit et de son récipient qu'en prenant toutes les précautions d'usage. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un dispositif de protection des yeux/du visage. En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.

5. CONTENU DE LA TROUSSE

5.1 Solution de conjugué CONJ

Un flacon de 15 ml d'anticorps monoclonal murin marqué à la phosphatase alcaline spécifique à la transcobalamine humaine dans un tampon Tris avec stabilisateur de protéines. Conservateur : < 0,1 % (p/v) d'azide de sodium. Prêt à l'emploi.

5.2 Solution substrat SUBS

Un flacon de 15 ml de paranitrophényl phosphate (pNPP), solution tampon. Prêt à l'emploi. Ne pas exposer à la lumière pendant la conservation.
N.B. NOCIF.

5.3 Solution d'arrêt STOP

Un flacon de 15 ml d'hydroxyde de sodium 1M, (pH >10).
Prêt à l'emploi. N.B. CORROSIF.

5.4 Tampon de lavage concentré WASH 8x

Deux flacons de 25 ml de tampon phosphate. Conservateur : 0,72 % (p/v) d'azide de sodium.
Diluer avant l'emploi. N.B. NOCIF.

5.5 Microplaque

Barrettes (détachables) de microplaque à 12 × 8 puits enrobées d'anticorps monoclonal murin anti-holotranscobalamine, sous emballage refermable en feuille d'aluminium avec dessiccatif.

5.6 Solution à blanc BLANK

Un flacon d'1 ml de tampon phosphate avec stabilisateur de protéines (bovines).

5.7 Étalons CAL 1-5

Cinq flacons d'1 ml de tampon phosphate avec stabilisateur de protéines (bovines) contenant de l'HoloTC.
Conservateur : < 0,1 % (p/v) d'azide de sodium. Prêt à l'emploi. Ne pas exposer à la lumière pendant la conservation.
VOIR L'ÉTIQUETTE DES FLACONS POUR LES CONCENTRATIONS.

5.8 Témoins CONTROL LOW CONTROL HIGH

Un flacon de témoin bas et un flacon de témoin haut : 1 ml de tampon phosphate avec stabilisateur de protéines (bovines) contenant de l'HoloTC. Conservateur : < 0,1 % (p/v) d'azide de sodium.
Prêt à l'emploi. Ne pas exposer à la lumière pendant la conservation.

5.9 Solution de prétraitement PRE

Un flacon de 25 mL de tampon citrate. Conservateur : < 0,1 % (p/v) d'azide de sodium. Prêt à l'emploi.

5.10 Mode d'emploi

6. MATÉRIEL/ÉQUIPEMENT NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Lecteur à filtre 405 nm pour barrette/microplaque à 96 puits.
2. Pipette(s) de précision délivrant 100 µL. Distributeur à 8 canaux, ou similaire, pour distribuer environ 250 à 300 µL pour lavage manuel.
3. Éprouvette graduée à pied en verre/plastique 1×200 ml.

4. Eau distillée/désionisée.
5. Serviettes en papier.
6. Minuteur pour intervalles de 30, 35 et 60 minutes.

7. STANDARDISATION

À l’heure actuelle, il n’existe aucune méthode et aucun matériau de référence reconnus à l’échelle internationale pour la standardisation. Les étalons BIOHIT Active B12 (holotranscobalamin) sont conformes aux étalons de référence internes qui ont fait l’objet d’une assignation de valeur unique.

8. CONSERVATION ET STABILITÉ

8.1 Stabilité de la trousse ouverte

Une trousse a été ouverte et réutilisée à trois reprises sur une période de trois mois sans effet indésirable sur la performance de la trousse. Après utilisation, les composants doivent être de nouveau stockés à une température comprise entre 2 et 8° C.

8.2 Stabilité de la trousse non ouverte

Entre 2 et 8°C, les composants non ouverts sont stables tant que les conditions indiquées sur les étiquettes sont maintenues.

8.3 Remarques relatives à la manipulation et à l’utilisation

1. Les composants de la trousse doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C. Leur utilisation est autorisée jusqu’à la date de péremption indiquée sur l’étiquette. Ne pas utiliser de réactifs dont la date de péremption est dépassée.
2. Chaque lot de réactifs et d’étalons a été normalisé pour produire la réaction appropriée. Ne pas intervertir les réactifs ou les étalons entre les lots.
3. Les concentrations des étalons sont indiquées sur les étiquettes des flacons et peuvent varier entre les lots.
4. Ne pas congeler les trousses.
5. Le tampon de lavage concentré doit être dilué avant l’emploi. Tous les autres réactifs sont prêts à l’emploi.
6. Le tampon de lavage dilué est stable pendant au moins 3 mois en l’absence de contamination microbienne. Le conserver entre 2 et 8 °C entre chaque utilisation.
7. Remettre les barrettes de microplaque en trop (inutilisées) dans l’emballage en aluminium avec le dessiccatif. Vérifier que l’emballage est bien fermé et conserver à nouveau entre 2 et 8 °C jusqu’à la prochaine utilisation.
8. Ne pas exposer les étalons, les témoins ou le substrat à la lumière pendant la conservation.
9. Éviter de contaminer les réactifs. Utiliser un nouvel embout de pipette jetable lors de chaque manipulation de réactif ou d’échantillon.

8.4 Signes de détérioration

Le substrat doit être incolore à jaune clair. Une couleur jaune foncé est signe de contamination et il faut jeter le réactif. Les turbidités ou précipités de tout composant indiquent une détérioration et il faut alors jeter le composant.

9. RECUEIL ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

1. Le dosage est recommandé pour utilisation sur le sérum humain (dont les tubes avec gel séparateur de sérum).
2. Ne pas utiliser d'échantillons grossièrement hémolysés ou turbides.
3. Bien mélanger les échantillons décongelés avant dosage et éviter de congeler/décongeler à répétition.
4. Les échantillons peuvent subir 3 cycles de congélation/décongélation. Les échantillons décongelés doivent être centrifugés à ≥10 000g pendant 5 minutes avant le dosage.
5. Il convient de ne pas soumettre les échantillons sur ou hors caillot à une température supérieure à la température ambiante pendant plus d'une nuit (≤ 16 heures).
6. Les échantillons peuvent être stockés à une température comprise entre 2 et 8 °C sur caillot pendant un maximum de 3 jours ou hors caillot pendant quatre semaines ; pour un stockage sur des périodes prolongées, les échantillons doivent être stockés hors caillot à –20 °C jusqu'à 6 mois.
7. Préparer chaque échantillon avant le dosage en ajoutant le prétraitement à l'échantillon dans un rapport de 1:1 – par exemple 150 µL d'échantillon plus 150 µL de prétraitement. Les échantillons prétraités et munis d'un couvercle peuvent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 24 heures avant le dosage.

10. PROCÉDURE DE TEST

10.1 Préparation

Préparation au dosage

Laisser tous les composants de la trousse, y compris les barrettes de microplaque, passer entre 18 et 25 °C pendant 30 à 60 minutes avant l'emploi. Mélanger les réactifs par une inversion en douceur.
Lorsqu'il est conservé entre 2 et 8 °C, le tampon de lavage subit une précipitation (cristaux éventuellement visibles). Avant de le diluer dans l'eau, laisser le tampon atteindre la température ambiante (peut être placé dans un incubateur à 37 °C le cas échéant pour accélérer le processus) jusqu'à ce qu'**AUCUNE** précipitation ne soit visible à l'œil nu.
Diluer le réactif suivant et bien mélanger.

Réactif	**Volume**	**Ajouter**
Tampon de lavage concentré x 8 distillée/désionisée	1 flacon	175 ml d'eau

Calculer le nombre de barrettes de microplaque nécessaires pour le dosage en cours et les maintenir dans le support pour barrettes de microplaque. Remettre les barrettes en trop dans l'emballage refermable en aluminium avec le dessiccatif et conserver celui-ci entre 2 et 8 ºC jusqu'à la prochaine utilisation. Vérifier que toutes les barrettes sont bien maintenues dans le support pour barrettes de microplaque. Il se peut que les utilisateurs souhaitent numéroter chaque barrette dans le coin supérieur pour les aider à l'identification. Garder le support pour barrettes de microplaque en vue d'utilisations ultérieures.
Préparer chaque échantillon avant le dosage en ajoutant le prétraitement à l'échantillon dans un rapport de 1:1 – par exemple 150 µL d'échantillon plus 150 µL de prétraitement. Les échantillons prétraités et munis d'un couvercle peuvent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 24 heures avant le dosage.

10.2 Protocole de dosage

1. Puits de référence pour identification.
2. Pipeter 100 µL d'étalons en double, de témoins de la trousse en double et d'échantillons patients pré-traités (à 50:50) en double dans les puits appropriés. Ne pas oublier de changer d'embouts de pipettes entre les différents ajouts. Cette étape ne doit pas durer plus de 15 minutes.
3. Incuber 60 ± 10 minutes entre 18 et 25°C.
4. Décanter le contenu des barrettes par inversion rapide au-dessus d'un évier adapté à l'élimination des matériaux biologiques en gardant à l'esprit le risque infectieux potentiel des échantillons. Bien sécher les barrettes retournées avec des serviettes en papier. **Ne pas laver.**
5. Ajouter 100 µL de conjugué à chacun des puits.
6. Incuber 35 ± 5 minutes entre 18 et 25°C.
7. Décanter le contenu des barrettes par inversion rapide au-dessus d'un évier adapté à l'élimination des matériaux biologiques. Bien sécher les barrettes retournées avec des serviettes en papier.
8. Laver les puits **cinq fois** avec au moins 250 µL de tampon de lavage dilué. **Décanter et sécher après chaque ajout de lavage.**
9. Ajouter 100 µL de substrat à chacun des puits.
10. Incuber 30 ± 5 minutes entre 18 et 25°C. **Ne pas décanter.**
11. Ajouter 100 µL de solution d'arrêt à chacun des puits, dans le même ordre et au même débit que le substrat. Tapoter doucement les puits pour mélanger.
12. Lire les barrettes à 405 nm. Lire le dosage 120 minutes maximum après ajout de la solution d'arrêt.

11. RÉSULTATS

11.1. Calcul et interprétation

Tracer la valeur moyenne d'absorbance de chaque étalon sur l'axe y par rapport à la concentration correspondante en pmol/L sur l'axe x. **LES CONCENTRATIONS DES ÉTALONS SONT INDIQUÉES SUR LES ÉTIQUETTES DES FLACONS. DES VALEURS DE CONCENTRATION SONT ATTRIBUÉES À CHAQUE LOT D'ÉTALONS ET PEUVENT VARIER D'UN LOT À L'AUTRE.**

La concentration (pmol/L) de chaque échantillon peut être calculée en localisant le point de la courbe qui correspond à la valeur moyenne d'absorbance de l'échantillon et en lisant la concentration correspondante en pmol/L sur l'axe x. Cette procédure peut être exécutée manuellement à l'aide d'une feuille millimétrée ou d'un lecteur de microplaque dont le logiciel est capable de mener à bien des procédures d'ajustement de courbe. En cas d'utilisation d'un lecteur de microplaque avec logiciel interne, **un algorithme d'ajustement de courbe par régression linéaire** doit être utilisé.

Une courbe d'étalonnage type (Figure 1.) est illustrée ci-dessous à des fins de référence. Elle ne doit pas être utilisée pour interpréter des résultats. Les échantillons dont les concentrations sont supérieures à 128 pmol/L se situent hors de la plage du dosage et doivent être enregistrés comme >128 pmol/L. Les résultats ne doivent pas être extrapolés. Chaque réplicat d'échantillon déviant de moins de 20 % peut être utilisé pour indiquer l'acceptabilité du dosage.

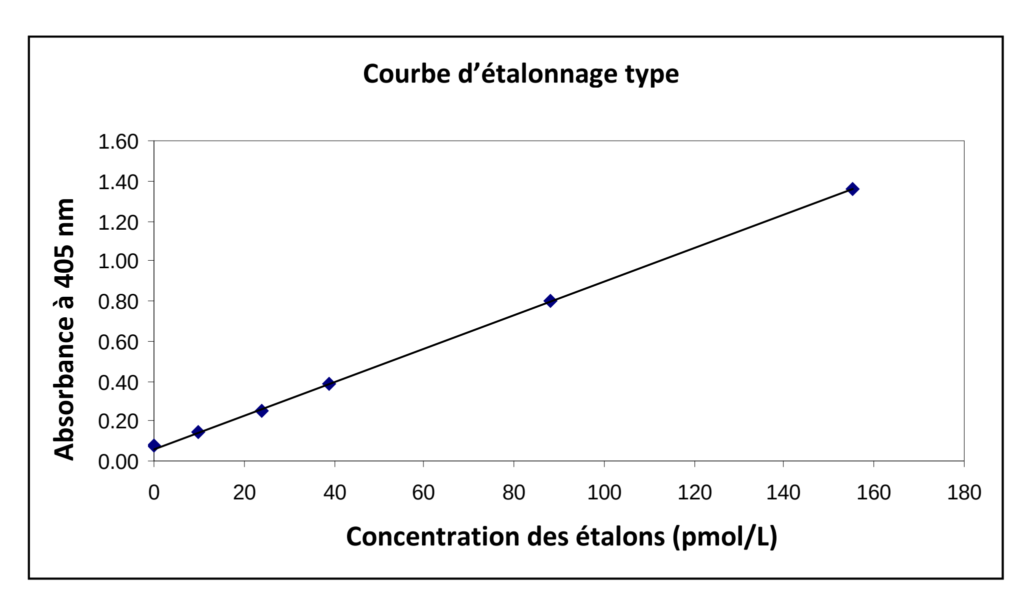


Figure 1. Courbe d'étalonnage type du test BIOHIT Active B12 (holotranscobalamin).

Unité de mesure

L'unité de mesure pour le test BIOHIT Active B12 (holotranscobalamin) est la suivante : pmol/L.

Plage de mesure (plage de validité)

La plage de mesure du dosage est la suivante : 10 pmol/L à 128 pmol/L.

11.2 Contrôle qualité

Veiller à ce que l'entretien et l'étalonnage du lecteur de microplaque soient effectués conformément aux instructions du fabricant et que la bonne longueur d'ondes (405 nm) et le bon algorithme d'ajustement des courbes (régression linéaire) soient appliqués.

Les utilisateurs doivent veiller à respecter strictement les instructions relatives à ce dosage, en particulier celles contenues dans les sections Mises en gardes et précautions et Remarques relatives à la manipulation et à l'utilisation. Avant de communiquer les résultats des tests des patients, l'utilisateur doit démontrer qu'il peut obtenir des caractéristiques de performance en termes de précision et une plage de validité des résultats de test comparables à ceux établis par le fabricant. Les kits de témoins faible et élevé prêts à l'emploi doivent être lancés en double pour tous les dosages afin de suivre la qualité de la procédure de test.

En supposant que les spécifications de précision décrites par le fabricant sont respectées, si un témoin ne respecte pas les spécifications des témoins ci-dessous, le dosage s'avère non valable et il ne faut pas communiquer les résultats du patient. L'utilisateur peut répéter le dosage après avoir examiné sa procédure ou contacté le distributeur/ fabricant. En cas de nouveau dosage, préparer une autre dilution de chaque échantillon. Il se peut que les laboratoires souhaitent inclure des témoins internes à chaque cycle de dosage. Conserver un tel matériel de témoin à 20 °C ou moins et éviter les cycles de congélation/décongélation à répétition. Les conservateurs tels que l'azide de sodium à <0,1 % (p/v) n'influent pas sur les résultats de l'échantillon.

Les plages de référence et les seuils appropriés doivent être calculés pour les populations spécifiques couvertes par les utilisateurs.

Tableau 1. Spécifications des témoins bas et haut.

Spécifications des témoins	Témoin bas	Témoin haut
Moyenne de double	15 à 35 pmol/L	36 à 84 pmol/L

11.3 Valeurs attendues

135 échantillons sériques issus de donneurs asymptomatiques apparemment sains âgés de 18 à 75 ans, comprenant approximativement le même nombre d'hommes [n = 65] et de femmes [n = 70], ont été testés avec le BIOHIT Active B12 (holotranscobalamin) EIA.
La concentration Active B12 (holotranscobalamin) globale moyenne pour cette population était de 72 pmol/L (plage de 15 à 147 pmol/L). Sur la base des données de cette population de référence, la plage de référence (intervalle de confiance à 95 %) est :

Plage de référence	21 à 123 pmol/L

Cette plage de référence a seulement valeur de recommandation et chaque laboratoire doit établir sa propre plage de référence susceptible d'être spécifique à la population qu'il dessert, en fonction des patients, de la pratique clinique et de facteurs géographiques, alimentaires ou environnementaux.

12. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Données représentatives ; les résultats des différents laboratoires peuvent différer.

12.1 Linéarité de dilution

À partir d'une étude menée sur la base du document EP6-A du CLSI[10], le BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA a démontré une linéarité de 5,3 à 156,0 pmol/L arrondie à 1 chiffre après la virgule) ; les résultats des différents laboratoires peuvent différer).

12.2 Exactitude

Une étude de corrélation a été réalisée sur des échantillons de sérum prélevés sur des adultes visiblement en bonne santé. Tous les échantillons ont été analysés à l'aide du BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA et un dosage de l'holotranscobalamine disponible dans le commerce, selon le document EP9-A2 du CLSI[11]. Les concentrations des échantillons allaient de 13,8 à 112,8 pmol/L. Les valeurs statistiques acquises sont affichées dans le tableau 2 :

Tableau 2. BIOHIT Active B12 (holotranscobalamin) EIA versus un test disponible dans le commerce.

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) EIA versus un test disponible dans le commerce	
Nombre d'échantillons	111
Pente de la courbe de régression (régression de Passing-Bablok) (IC de 95 %)	0,95 (0,89 à 1,01)
Point d'intersection avec l'axe y (régression de Passing-Bablok) (IC de 95 %)	8,39 (5,73 à 11,77)
Coefficient de corrélation (r) (Pearson) (IC de 95 %)	0,93 (0,90 à 0,95)

12.3 Précision

7 échantillons de sérum humain ont été dosés à l'aide de 3 lots de réactifs. Les échantillons ont été dosés par 2 utilisateurs en réalisant huit réplicats, une fois par jour pendant 5 jours (n total=80). Les données de cette étude sont synthétisées dans le tableau suivant :

Tableau 3. Données de précision.

Échantillon	n	Lot	Utilisateur	Moyenne (pmol/L)	% CV intra-dosage	% CV total
1 A	80	1	1	17.8	7.5%	8.2%
			2	17.5	3.1%	9.3%
		2	1	20.1	6.0%	6.6%
			2	20.3	6.9%	9.2%
		3	1	19.1	5.5%	8.0%
			2	18.9	8.5%	11.0%
2 A	80	1	1	21.8	5.5%	9.9%
			2	21.8	3.9%	7.5%
		2	1	22.6	5.6%	8.7%
			2	23.5	9.0%	10.3%
		3	1	23.9	7.0%	10.2%
			2	23.2	5.8%	8.9%
3 A	80	1	1	28.8	3.8%	7.8%
			2	30.7	4.3%	9.6%
		2	1	31.0	6.8%	8.0%
			2	31.4	4.3%	6.1%
		3	1	31.5	4.5%	6.4%
			2	32.2	4.0%	9.2%
4 A	80	1	1	49.3	3.9%	7.4%
			2	52.6	4.1%	6.7%
		2	1	50.8	5.6%	10.0%
			2	51.7	4.7%	5.9%
		3	1	52.6	4.6%	4.8%
			2	55.0	5.5%	6.1%
5 A	80	1	1	68.4	4.0%	7.6%
			2	73.2	3.7%	7.5%
		2	1	74.8	4.3%	8.2%
			2	75.9	4.6%	6.4%
		3	1	75.1	4.4%	7.9%
			2	76.3	4.9%	6.2%
7 A	80	1	1	115.9	4.2%	5.9%
			2	121.1	3.6%	7.0%
		2	1	123.2	4.3%	10.2%
			2	124.0	4.2%	6.4%
		3	1	127.0	4.8%	10.1%
			2	129.5	3.2%	5.6%
Contrôle faible	80	1	1	23.7	9.4%	10.9%
			2	23.8	5.1%	11.5%
		2	1	20.0	6.0%	7.5%
			2	18.6	5.8%	8.5%
		3	1	20.3	8.3%	9.7%
			2	20.1	8.3%	10.0%
Contrôle élevé	80	1	1	61.2	6.3%	6.4%
			2	58.8	4.5%	8.9%
		2	1	50.3	6.3%	8.1%
			2	50.2	5.9%	8.4%
		3	1	52.2	7.7%	9.2%
			2	50.8	5.8%	8.5%

12.4 Limite du blanc

Dans une étude représentative, les déterminations de la Limite du blanc ont été réalisées à l'aide de deux échantillons d'holotranscobalamine à faible niveau et de deux lots de réactifs (120 dosages par lot de réactif).
Il a été déterminé que la Limite du blanc de BIOHIT Active B12 (holotranscobalamin) EIA était de 4,9 pmol/L (arrondie à 1 chiffre après la virgule).

12.5 Limite de détection

Dans une étude représentative, les déterminations de la Limite de détection ont été réalisées à l'aide de cinq échantillons d'holotranscobalamine à faible niveau et de deux lots de réactifs (120 dosages par lot de réactif).
Il a été déterminé que la Limite de détection de BIOHIT Active B12 (holotranscobalamin) EIA était de 8,1 pmol/L (arrondie jusqu'à 1 chiffre après la virgule).

12.6 Limite de quantification/sensibilité fonctionnelle

Les déterminations de la Limite de quantification ont été réalisées à l'aide de cinq échantillons d'holotranscobalamine à faible niveau et de deux lots de réactifs (120 dosages par lot de réactif). Il a été déterminé que la Limite de quantification de BIOHIT Active B12 (holotranscobalamin) EIA était de 8,3 pmol/L (arrondie à 1 chiffre après la virgule).

12.7 Effet crochet à forte dose

L'effet crochet à forte dose est un phénomène dans lequel des échantillons présentant une concentration très élevée peuvent apparaître dans la plage dynamique du dosage. Pour le BIOHIT Active B12 (holotranscobalamin) EIA, aucun effet crochet à forte dose n'a été détecté avec deux échantillons et une concentration d'environ 419 et 2 236 pmol/L.

12.8 Réactivité croisée

Le BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) est conçu pour un écart maximum de ≤ 10 % de la concentration d'holotranscobalamine en présence d'apotranscobalamine ou d'haptocorrine.
Une étude a été menée sur la base du document EP7-A2[12] du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).
Trois échantillons d'holotranscobalamine dans la plage du dosage ont été complétés avec 500 pmol/L d'apotranscobalamine ou 5000 pmol/L d'haptocorrine. L'écart maximum de la concentration d'holotranscobalamine était compris entre -5 % et 1 %.

12.9 Interférence

Le BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) est conçu pour un écart maximum de ≤ 10 % de la concentration d'holotranscobalamine en présence de composés potentiellement interférents.
Une étude a été menée sur la base du document EP7-A2[12] du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).
Des échantillons d'holotranscobalamine dans la plage du dosage ont été complétés avec les composants potentiellement interférents énumérés dans le tableau ci-après. L'écart maximum de la concentration d'holotranscobalamine était compris entre -10 % et 8 %.

Tableau 4. Liste des composants interférents.

Substance potentiellement interférente	On n'a pas décelé d'interférence à la concentration suivante
Hémoglobine	500 mg/dL
Bilirubine	30 mg/dL
Triglycéride (solution intralipide)	3 000 mg/dL
Facteur rhumatoïde	7 500 IU/dL
Protéine totale	9 000 mg/dL

13.GARANTIE

Biohit est tenu de remédier à tout défaut découvert dans un produit quel qu'il soit (le « Produit défectueux ») résultant de l'emploi de composants inappropriés ou d'une qualité de fabrication négligente, qui empêche le fonctionnement ou l'utilisation prévue du produit, y compris, mais pas uniquement, les fonctions indiquées parmi les spécificités des produits établies par Biohit. CEPENDANT, LA PRÉSENTE GARANTIE N'EST PAS APPLICABLE SI LE DÉFAUT A ÉTÉ CAUSÉ PAR UNE UTILISATION IMPROPRE OU ABUSIVE DU PRODUIT, UN DOMMAGE ACCIDENTEL, UNE CONSERVATION INCORRECTE OU ENCORE L'UTILISATION DU PRODUIT POUR DES OPÉRATIONS HORS DES LIMITATIONS OU CARACTÉRISTIQUES, OU CONTRAIRES AUX INSTRUCTIONS FOURNIES PAR CE MODE D'EMPLOI. La période de garantie est définie dans le mode d'emploi et prend effet à compter de la date d'expédition du Produit par Biohit. Ce coffret de diagnostic Biohit a été fabriqué conformément aux protocoles de gestion de la qualité définis par la norme ISO 9001 / ISO 13485. En cas de litiges, c'est la version anglaise du texte qui s'applique.

14. INFORMATION CONCERNANT LA COMMANDE

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) Cat. No 602 290

15. DATE DE PUBLICATION

BIOHIT Active B12 (Holotranscobalamin) Version 01, October 2014.

16. RÉFÉRENCES

1. Nexo E. Hvas A-M. Bleie Ø *et al*. Holo-transcobalamin is an early marker of changes in cobalamin homeostasis. A randomized placebo-controlled study. *Clin Chem* 2002;48(10):1768-71.
2. Valente E. Scott JM. Ueland PM *et al*. Diagnostic accuracy of holotranscobalamin. methylmalonic acid. serum cobalamin. and other indicators of tissue vitamin B12 status in the elderly. *Clin Chem* 2011;57(6):856-863.
3. Nexo E. Hoffmann-Lucke E. Holotranscobalamin. a marker of vitamin B12 status: analytical aspects and clinical utility. *Am J Clin Nutr* 2011;94(1):359S-365S.
4. Obeid R. Jouma M. Hermann W. Cobalamin status (holotranscobalamin. methylmalonic acid) and folate as determinants of homocysteine concentration. *Clin Chem* 2002;48(11):2064-5.
5. Herrmann W. Schorr H. Obeid R *et al*. Vitamin B12 status. particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations and hyperhomocysteinemia in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 2003;78:131-6.
6. Lloyd-Wright Z. Hvas A-M. Moller J *et al*. Holotranscobalamin as an indicator of dietary vitamin B12 deficiency. *Clin Chem* 2003;49(12):2076-8.
7. Refsum H. Yajnik CS. Gadkari M *et al*. Hyperhomocysteinemia and elevated methylmalonic acid indicate a high prevalence of cobalamin deficiency in Asian Indians. *Am J Clin Nutr* 2001;74:233-41.
8. Refsum H. Smith AD. Low Vitamin B12 status in confirmed Alzheimer's disease as revealed by serum holotranscobalamin. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:959-61.
9. Chen X. Remacha AF. Sarda MP *et al*. Influence of cobalamin deficiency compared with that of cobalamin absorption on serum holo-transcobalamin II. *Am J Clin Nutr* 2005;81:110-14.
10. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline.* NCCLS document EP6-A. Wayne. PA: NCCLS; 2003.
11. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline–Second Edition*. NCCLS Document EP9-A2. Wayne. PA: NCCLS; 2002.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Interference Testing in Clinical Symbols*.

IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*	CONTROL LOW	Témoin bas
REF	Numéro de référence	CONTROL HIGH	Témoin haut
LOT	Lot	CONJ	Conjugué
Σ 96	96 tests	SUBS	Substrat
	Attention	STOP	Solution d'arrêt
	Consulter le mode d'emploi	PRE	Prétraitement
	Protéger de la lumière	WASH 8x	Tampon de lavage concentré (x8)
	À utiliser avant	BLANK	Témoin
+2°C +8°C	Conserver entre 2 et 8 °C	CAL 1-5	Étalons 1 à 5
			Corrosif
2	Ne pas réutiliser		Nocif

Siège principal

BIOHIT OYJ

Laippatie 1

00880 Helsinki, Finland

Tel: +358 9 773 861

Fax: +358 9 773 86200

E-mail: info@biohit.fi

www.biohithealthcare.com

400920-01